DIE BEDINGUNGEN DER KONIDIENBILDUNG BEI EINIGEN PILZEN.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen philosophischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Carl Werner

aus Bad-Nauheim (Hessen).

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Frankfurt a. M. 1898.

Druck von Gebrüder Knauer.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Nectria cinnabarina Tode	5—38
Einleitung	5
I. Wirkung äußerer Einflüsse auf die Konidienbildung	7
A. Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes des Substrates	7
B. „ verschiedener Nährstoffe	17
C. „ steigender Konzentration von Nährstoffen	22
1. Steigende Konzentration von Kohlehydraten	22
2. „ „ „ anorganischen Salzen	25
D. Einfluß des Lichtes	29
E. „ der Temperatur auf die Keimung der Konidien	31
II. Gährungerregende Eigenschaft der Nectria cinnabarina	33
III. Perithecienbildung	34
IV. Resultat	37
Volutella ciliata Alb et Schweinitz	39—46
Einleitung	39
Normale Konidienträgerbildung	41
Anormale	45
Resultat	46
Litteraturverzeichnis	47

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548622_0158

Nectria cinnabarina Tode.

Wohl ist die Nectria cinnabarina oft das Objekt wissenschaftlicher Untersuchungen gewesen, doch waren dieselben teils morphologischer Natur, teils geschahen sie in forstwissenschaftlichem Interesse. So hat sich H. Mayr (80) eingehend mit dem Pilze beschäftigt, und er brachte den experimentellen Nachweis, daß dieser Pyrenomycet als Parasit an den Wundstellen der Bäume einzudringen vermöge und nach Abtötung der befallenen Teile saprophytisch seine Fruchtlager entwickele. Betreffs der morphologischen Untersuchungen verweise ich auf Tulasne, Wehmer (94) und andere.

O. Brefeld war der erste, welcher sich mit der künstlichen Kultur der Nectria cinn. befaßte. Er bestätigte dabei die Annahme Tulasne, daß die Tubercularia vulgaris in den Entwickelungsgang der Nectr. cinn. T. gehöre, indem er bewies, daß Kulturen von Tuberculariakonidien und von Ascosporen der Nectria zu gleiche Secundärkonidien abschnürenden Mycelien führten.

Herr Professor Klebs hatte die Güte, als ich in dem der Pilzvegetation so günstigen, feuchten Herbste 1896 die Nectria cinnabarina in den Erlen bei Basel in äußerst üppiger Entwickelung antraf, mich auf die Bearbeitung der Frage, inwieweit das Auftreten und die Verschiedenheit der Fruktifikationsformen an äußere Bedingungen geknüpft sei, hinzuweisen. Wenn auch bezüglich der Fortpflanzungsorgane in erster Linie die rein ungeschlechtliche — die Konidienbildung — in Betracht kommt, so war der Grundgedanke bei Beginn der Arbeit doch hauptsächlich der, die physiologischen Bedingungen zu erforschen, welche für das Auftreten der Konidienbildung und der für die

Erhaltung der Art wichtigen Perithecienbildung notwendig sind. Leider sind die Versuche in Bezug auf die letzteren insofern nicht gelungen, als es mir unmöglich war die Peritherien zur vollen Entwickelung zu bringen, indem ich immer nur zu den Anfangsstadien derselben gelangte und keine weitere Ausbildung beobachten konnte. Ich sah mich daher genötigt auf die physiologische Behandlung der Perithecien zu verzichten und bringe in dem III. Abschnitte der Arbeit nur eine morphologische Entwickelungsgeschichte derselben, soweit ich sie in meinen Kulturen verfolgen konnte.

Vorliegende Arbeit ist im Laufe der zwei letzten Wintersemester teils in dem alten für Kulturarbeiten äußerst ungünstigen, teils in dem neuerbauten, allen Ansprüchen der modernen Wissenschaft genügenden botanischen Institute zu Basel ausgeführt worden.

Indem ich an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Klebs, für die mir zu teil gewordene Anleitung meinen verbindlichsten Dank sage, will ich noch betreffs der Kulturversuche Folgendes vorausschicken. Als Ausgangsmaterial benutzte ich nebeneinander in getrennten Kulturreihen die Ascosporen eines Peritheciums und Konidien, welche ich einem Tubercularialager entnommen hatte. Im weiteren Verlaufe der Kulturen zeigten sich beide Reihen so identisch, daß es überflüssig erschien, dieselben getrennt zu behandeln. Das im Verlaufe der Arbeit mitgeteilte gilt daher sowohl für Ascosporen- als auch Tubercularia-Konidien-Kulturen. Die Nährböden und -flüssigkeiten waren selbstverständlich mit der größten Sorgfalt sterilisiert, und ich habe sämtliche Kulturen mit den aus dem Ausgangsmaterial gewonnenen Reinkulturen angelegt.

I. Wirkung äufserer Einflüsse auf die Konidienbildung.

A. Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes des Substrates auf die Konidienbildung.

Der Wassergehalt des Substrates übt bei der fruktifikativen Entwickelung der Nectria cinnab. einen spezifischen Einfluß auf die Entstehung der Konidien einerseits an undifferenzierten Hyphen, andererseits an morphologisch differenzierten Konidienträgern aus, wobei die Gestalt der Konidien unverändert bleibt. Ich konnte dabei folgende Formen der Konidienbildungsweise unterscheiden:

1. Die Konidienabschnürung findet in äußerst unregelmäßiger Weise an allen Hyphen des Myceliums statt. Ich bezeichne die so gebildeten Konidien als „Flüssigkeitskonidien".
2. Die Konidienbildung findet an verzweigten oder einfachen Konidienträgern statt. Dieselben erheben sich einzeln, seltener zu Bündeln vereinigt, über das Substrat in die Luft. Die solcher Art entstandenen Konidien bezeichne ich als „Luftkonidien".
3. Die Konidienträger stehen als fadenförmige, verzweigte Hyphen dicht zusammengedrängt auf einem, oft mächtig entwickelten, pseudoparenchymatischen Stroma. Die Konidienabschnürung findet an den Zweigenden dieser Träger statt. Diese Form der Konidienbildung stellt die in der Natur so häufig auftretende Tubercularia vulg. dar. Die hierbei in dicker Schicht abgeschnürten Konidien benenne ich „Lagerkonidien".

Bevor ich jetzt auf die Frage nach der Ursache des Einflusses der Feuchtigkeit auf die Konidienbildung näher eintrete, will ich mich erst zu einer speciellen Beschreibung des Auftretens der einzelnen Formen wenden.

1. Flüssigkeitskonidien.

Als Kulturmedien benutzte ich Flüssigkeiten, Agar-Agar von 0,5 % oder auch Brotstücke, welche reichlich feucht gehalten wurden. Die nötige Nahrung lieferten die in Tab. I angeführten Lösungen, in welchen die Ascosporen und Konidien nach kürzerer oder längerer Zeit keimen und Mycelien entwickeln. Untersuchte ich nach einigen Tagen eine Kultur, so enthielt dieselbe teils kräftig, teils schwach entwickelte Mycelien. Dieselben gliederten an allen Hyphen in unregelmäßiger Weise Konidien ab. Fig. 1, 3.

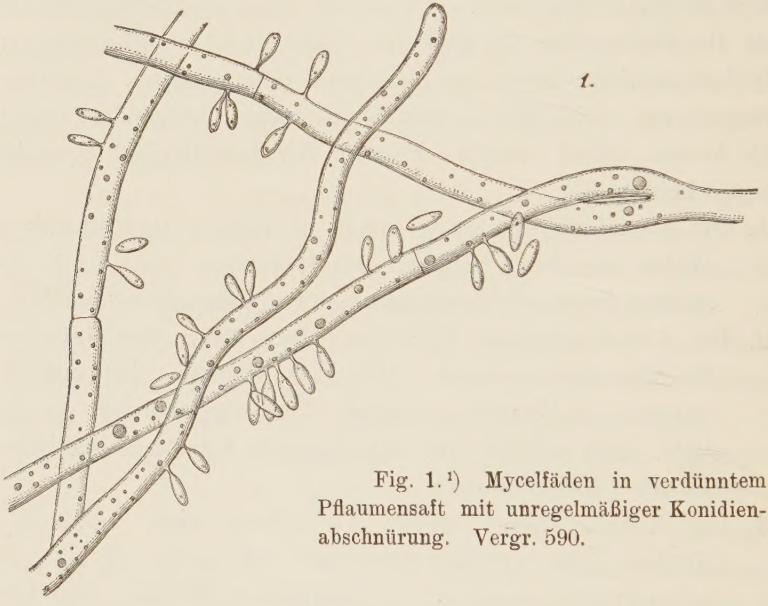

Fig. 1.[1]) Mycelfäden in verdünntem Pflaumensaft mit unregelmäßiger Konidienabschnürung. Vergr. 590.

Wie schon Brefeld erwähnt, zeigen die Flüssigkeitskonidien verschiedene Größe 12,5 μ — 40 μ. Diese Schwankung wird jedoch darin ihre Ursache haben, daß die abgeschnürten Konidien sofort nach der Abtrennung keimen, indem sie erst ihr Volum vergrößern und dann ein bis zwei Keimschläuche treiben, oder auch direkt durch Sprossung neue Konidien bilden.

---

[1]) Sämtliche Abbildungen sind mit Hilfe des Abbé'schen Zeichenapparates gezeichnet.

Die Entstehungsweise der Konidien ist eine succedane, indem sich dieselben kurz über der Oberfläche des Mycelfadens abtrennen, so daß ein kurzer warzenförmiger Träger zurückbleibt. Derselbe wächst wiederum zu einer neuen Konidie heran, die sich dann in derselben Weise abschnürt. Fig. 2. Die Bildung einer Konidie verlief in Pflaumensaft in 3 bis 4 Stunden.

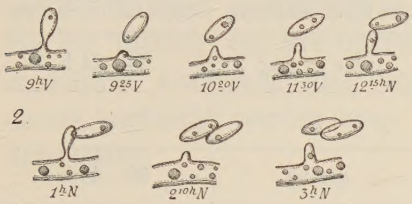

Fig. 2. Bildung einer Konidie (succedane); kontinuierliche Beobachtungsreihe. Vergr. 590.

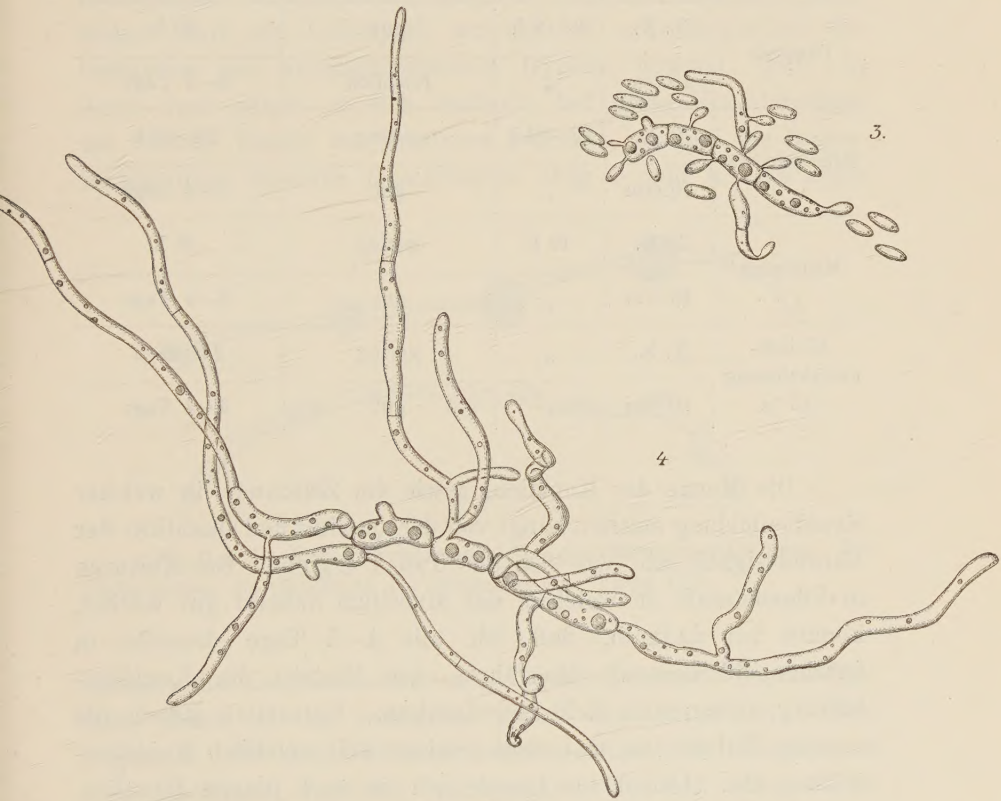

Fig. 3. Mycel mit reichlicher Konidienbildung in Knop'scher Nährlösung.
Fig. 4. Dasselbe nach 24 Stunden (in Pflaumensaft überführt).

Tabelle I.

Kulturflüssigkeit	Menge	Zeitdauer bis zur Keimung	Mycelentwickelung bei Eintritt der Konidienbildung	Zeitdauer bis zum Eintritt der Konidienbildung
Wasser	Tropfenkultur	ca. 24 h	sehr gering	24—24 h
	circa 10 ccm	„	„	„
Nährlösung (Knop)	T. K.	„	gering	30—48 h
	10 ccm	„	„	„
Pflaumensaft	T. K.	6—12 h	gut	36 h
	10 ccm	„	kräftig	5—7 Tage
Obstsaft	T. K.	6—12 h	gut	36 h
	10 ccm	„	reichlich	5—7 Tage
Rindendecoct	T. K.	12—24 h	gering	30—36 h
	10 ccm	„	gut	3—4 Tage
Mistdecoct	T. K.	12 h	gering	36 h
	10 ccm	„	gut	3—4 Tage
Fleischextraktlösung 0,5 %	T. K.	„	gering	24—36 h
	10 ccm	„	gut	3—4 Tage

Die Menge der Konidien, sowie die Zeitdauer, in welcher Konidienbildung eintritt, hängt von der Qualität und Quantität der Nährflüssigkeit ab, wie sich aus Tab. I ergiebt. Bei Kulturen in Pflaumensaft, in welchem das Mycelium äußerst gut wächst, konnte ich dadurch, daß ich alle 4—5 Tage dasselbe in frischen Pflaumensaft überführte, den Eintritt der Konidienbildung unbegrenzte Zeit unterdrücken. Unterblieb jedoch die erneute Zufuhr, so trat nach einiger Zeit reichlich Konidienbildung ein. Umgekehrt konnte ich an noch jungen Mycelien, welche in schlechter Nährlösung reichlich Konidien erzeugten, oft beobachten, daß dieselben in Obst- oder Pflaumensaft über-

führt an Stelle der Konidien Zweige bildeten. Dabei wuchsen noch nicht abgetrennte Konidien direkt zu Hyphen aus. Fig. 3 und 4. Es geht hieraus hervor, daß Nahrungsmangel als Reiz für die Bildung von Flüssigkeitskonidien wirkt, während bei reichlicher Ernährung das vegetative Wachstum des Pilzes derart begünstigt werden kann, daß die Konidienbildung völlig unterbleibt.

2. Luftkonidien.

Bei denjenigen Kulturversuchen, bei welchen ich als Substrat 1—2 % Agar-Agar mit Pflaumensaft oder Gelatine-pflaumensaft benutzt hatte, bedeckte sich die Oberfläche nach einiger Zeit mit Luftmycel, welches bei mikroskopischer Betrachtung aus konidientragenden Hyphen bestand. Auf 1 % Agar-Agar zeigte es sich vielfach, daß diese Konidienträger mit beiden Enden im Substrate wuchsen, so daß sie bogenförmig über dasselbe hinausragten. Fig. 5 und 6. An ihnen

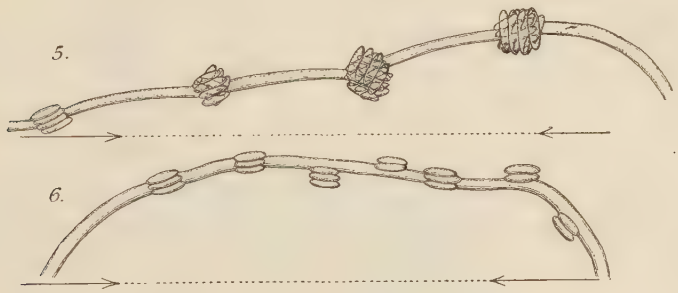

Fig. 5 u. 6. Konidienträger auf 1 % Agar-Pflaumensaftkulturen. Die Pfeile deuten die Oberfläche des Substrates an. Vergr. 410.

erfolgte die Konidienabschnürung in einer gewissen Regelmäßigkeit, indem sie an annähernd gleich weit entfernten Stellen begannen. Die abgeschnürten Konidien verklebten, infolge einer ausgeschiedenen Gallerte, miteinander, so daß eine solche konidientragende Hyphe ein rosenkranzförmiges Aussehen erhielt.

Auf konzentriertem Nähragar, zumal auf Gelatine, wuchsen die Konidienträger senkrecht vom Substrate in die Luft, verzweigten sich und begannen reichlich Konidien abzuschnüren. Fig. 7 und 8.

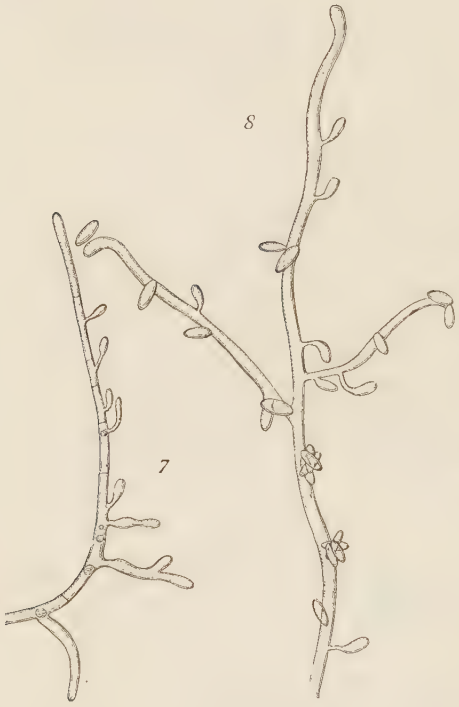

Fig. 7, 8. Luftkonidienträger auf 4% (Asparagin Nähr)-agarkulturen. Vergr. 410.

Fig. 9. Bündelige Konidienträger auf Kartoffelkulturen. Vergr. 300.

Oft war die Konidienbildung so massenhaft, daß die ganze Kulturoberfläche eine rötliche Färbung erhielt. Besonders stark verzweigte Konidienträger erzielte ich auf sterilisierten, etwas abgetrockneten Kartoffeln. Bemerkenswert war hierbei, daß die Konidienträger vielfach bündelig vereinigt waren. Fig. 9. Nie jedoch gelang es mir in diesen Kulturen die typische Tuberculariaform zu erzielen, sondern es bildeten sich immer einzelne oder auch bündelig zusammenwachsende Konidienträger. Die Größe der Luftkonidien war zwar auch keine konstante, (12,5 μ — 18 μ),

jedoch waren die Schwankungen bei weitem nicht so bedeutend wie bei den Flüssigkeitskonidien.

3. Lagerkonidien.

Unter Lagerkonidien verstehe ich, wie bereits oben bemerkt, diejenige Konidienform, welche als Tubercularia vulgaris bekannt ist. Sie unterscheidet sich von der vorhergehenden hauptsächlich dadurch, daß die Konidienträger dicht zusammengedrängt stehen und einem pseudo-parenchymatischen Lager entspringen. Die Konidien sind nahezu gleich groß (12,5 μ—14 μ) und werden in solcher Masse erzeugt, daß sie in dicker rötlicher Schicht die Konidienträger bedecken. Ich erhielt nach 4 bis 6 Wochen die Tuberculariabildung in überaus reichlicher Menge, unter kräftiger Stromaentwickelung, auf relativ sehr trockenen Substraten, wie Brotstücken, besonders aber auf sterilisierten Kastanien. Fig. 10.

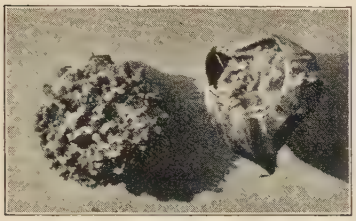

Fig. 10.
Kastanienkulturen mit Tuberculariabildungen. $^2/_3$ natürl. Größe.
Photogr. Aufn.

11.

Fig. 11. Hyphenknäuel mit beginnender Zweigbildung. Vergr. 590.

Die Entstehung der Lagerkonidien begann damit, daß in dem Mycel zahlreiche Hyphenknäuel auftraten, auf deren

nähere Besprechung ich bei der Behandlung der Perithecien zurückkommen werde. Von diesen Knäueln (Fig. 11, 33 — 37), sowie den dieselben umgebenden Hyphen, wuchsen zahlreiche Zweige aus, die sich fest ineinander verflochten und schließlich

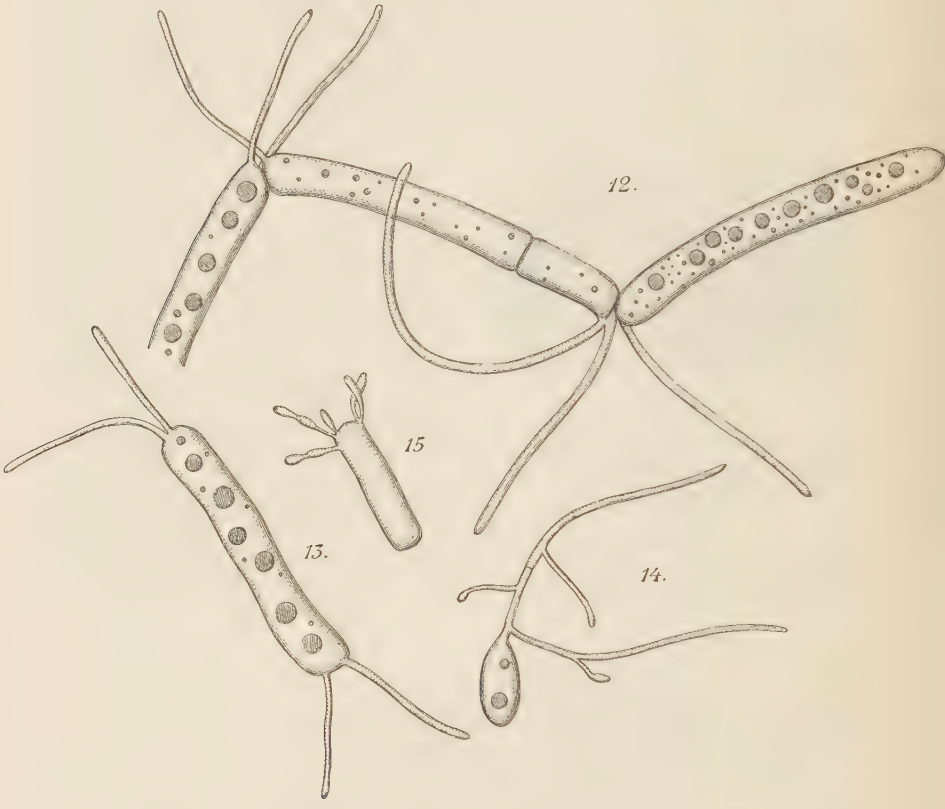

Fig. 12, 13. Hyphenzerfall mit Zweigbildung. Vergr. 590.
Fig. 14. Hyphenzelle mit Luftkonidienträgerbildung. Vergr. 590.
Fig. 15. Zelle mit direkter Konidiensprossung. Vergr. 590.

zu einem pseudoparenchymatischen Gewebe verschmolzen. In auffallender Weise beteiligten sich bei der Lagerbildung besonders breitlumige Hyphen, welche in einzelne Zellen zerfallen waren und sich durch schwach rötliche Färbung ihres fettreichen Inhaltes auszeichneten. Fig. 12, 13.

An einzelnen dieser Hyphen entstanden, bevor die Lagerbildung begann, direkt Luftkonidienträger. Fig. 14, 15.

Auffallend war bei obigen Versuchen die Thatsache, daß in Flüssigkeiten immer nur Flüssigkeitskonidien entstanden, und ich in keinem Falle beobachten konnte, daß sich über die Flüssigkeit Luftmycel, resp. Luftkonidienträger erhoben hätten, wie dies bei andern Pilzen der Fall ist. Ebenso kamen auf Kastanien oder Brotstücken, sobald dieselben genügend feucht gehalten wurden, niemals Lagerbildungen zustande, sondern es war zur Erzeugung derselben absolut notwendig, daß das betreffende Substrat trockener war als die umgebende Luft. Dadurch wurden die Hyphen einesteils an der Ausbreitung im Substrate gehindert, so daß sie sich zu einem dichten Geflechte verzweigten, welcher Umstand für die Tuberculariabildung günstig ist, andernteils findet, sobald das Substrat genügend trocken ist, ein Wachstum der Hyphen in die Luft statt. Hierdurch werden, sei es infolge von Transpiration oder sonstiger Einflüsse des Aufenthaltes in der Luft, in den Hyphen Prozesse bewirkt, welche zur Bildung der Lager führen. Das Wachstum des Mycels auf trockenen Substraten in die Luft erklärt sich aus dem positiven Hydrotropismus der Nectria cinnab.

In Folgendem will ich in Kürze die Versuche mitteilen, welche mir den Beweis des positiven Hydrotropismus des Mycels lieferten.

1. Ein Stück aus einer Pflaumensaftagarkultur, welches vom Mycel des Pilzes vollständig durchwachsen war, wurde an einem ausgeglühten Platindrahte über einer sterilisierten Pflaumensaftlösung aufgehängt. Nach einigen Tagen war das Mycel von dem Agarstückchen in den Pflaumensaft hineingewachsen und verbreitete sich darin sehr rasch, während auf dem Agar nach der der Flüssigkeit abgewandten Seite keine Mycelbildung zu beobachten war.
2. Eine Petrischale von 18 cm Durchmesser, mit einer konzentrierten Pflaumensaftgelatine ausgegossen, wurde in der Mitte mit kräftig entwickeltem Mycel aus einer Pflaumensaftkultur geimpft. Darauf wurde eine Glasplatte in einer

Entfernung von 5 mm derart über dem Mycelstückchen plaziert, daß die Hälfte desselben sich unter der Platte, die andere Hälfte in der freien Luft befand. Da die Schale offen im Zimmer stand, in welchem infolge von Zentralheizung eine relativ trockene Luft herrschte, befand sich zwischen Glasplatte und Oberfläche der Gelatine eine verhältnismäßig feuchte Luftschicht. In der That verbreitete sich das Mycel schon nach wenigen Tagen vollständig unter der Glasplatte, während es außerhalb derselben eine äußerst minimale Entwickelung zeigte. Sowie ich jedoch die ganze Kulturschale in eine feuchte Kammer brachte, fand das Wachstum des Mycels unter gleichzeitiger Bildung von Luftkonidienträgern nach allen Seiten gleichmäßig statt. Entfernte ich die Kammer wieder, so wuchs es nur unter der Glasplatte. Daraus ergiebt sich, daß der Pilz das Bestreben hat nur nach dem feuchten Medium hin zu wachsen.

3. Kastanien, auf welchen sich bereits kräftige Mycelbildung zeigte, befestigte ich derart, daß ich einige so über einer Wasserschicht aufhing, daß das Mycelium dem Wasser zugekehrt war. Andere hatte ich unterhalb einer mit Hilfe von benetztem Filtrierpapier hergestellten Feuchtigkeitsquelle angebracht, so daß das Mycel derselben abgewandt und gegen den Erdboden gerichtet war. Beide Versuchsreihen standen offen in der trockenen Luft des Zimmers. Nach einiger Zeit war im ersten Falle das Mycel senkrecht nach unten gewachsen, während es sich im zweiten Falle der Kastanie anschmiegte und seiner Eigenschwere entgegen nach der feuchten Stelle zustrebte.
4. Wurden Kastanienkulturen in einen mit Feuchtigkeit ziemlich gleichmäßig gesättigten Raum gebracht, — ich benutzte dazu Glasglocken, welche innen vollständig mit feuchtem Filtrierpapier, dessen Enden in Wasser tauchten, ausgelegt waren —, so wuchs das Mycel von der Kastanie aus wagrecht nach dem Rande des Kulturschälchens zu und über denselben hinaus in den feuchten Raum.

5. Kastanienkulturen, welche an der Oberfläche mit Luftmycel bedeckt waren, stellte ich, nachdem auf zwei entgegengesetzten Seiten derselben senkrecht zur Oberfläche zwei Scheiben abgeschnitten waren, in die trockene Luft des Laboratoriums. Sodann leitete ich vermittels Filtrierpapier und Kapillarröhren auf der einen Seite, ungefähr 2—3 mm von der Schnittfläche entfernt, einen kontinuierlichen Strom von fließendem Wasser vorbei. Wenige Tage später hatte sich auf der dem Filtrierpapier zugekehrten Seite Luftmycel entwickelt, welches bis in das fließende Wasser heranwuchs, während auf der entgegengesetzten Seite kein Mycelwachstum stattgefunden hatte.

Aus diesen Versuchen geht deutlich der stark positive Hydrotropismus der Nectria hervor. Durch denselben erklärt es sich, daß die reichliche Bildung von Luftmycel, und infolgedessen das Zustandekommen der Tuberculariaiager, besonders im Herbste beobachtet wird. In dieser Jahreszeit besitzt die Luft durchschnittlich den größten Feuchtigkeitsgehalt, während das als Substrat dienende Holz relativ stark ausgetrocknet ist. Ebenso ist anzunehmen, daß das Eindringen der Hyphen von der Infektionsstelle in den befallenen Teil ebenfalls zum Teil durch den positiven Hydrotropismus bewirkt wird. Wie H. Mayr (83) nachgewiesen hat, dringt das Mycel in die Kambiumschicht ein, nachdem die Wundstelle, an der die Infektion erfolgte, abgetrocknet ist. Es wirken speziell im letzteren Falle noch andere Faktoren, wie Chemitropismus mit.

B. Einfluß verschiedener Nährstoffe auf die Konidienbildung.

1. Stickstoff und Kohlenstoff liefernde Verbindungen.
2. Stickstoffverbindungen.
3. Kohlehydrate.
4. Organische Säuren.
5. Mehrwertige Alkohole.

Sämtliche Kulturen hatte ich derweise angelegt, daß ich Mycelstückchen aus einer Pflaumensaftkultur, welche noch keine

Konidien gebildet hatte, in anorganische Nährlösung von gleicher Zusammensetzung (NaCl, $MgSo_4$, KH_2PO_4, $\widehat{aa}$ 0,2 %, $CaCl_2$ 0,1 %) brachte, welcher bestimmte Mengen des betreffenden Nährstoffes zugesetzt waren.

1. Einfluß stickstoff- und kohlestoffhaltiger Nährlösungen.

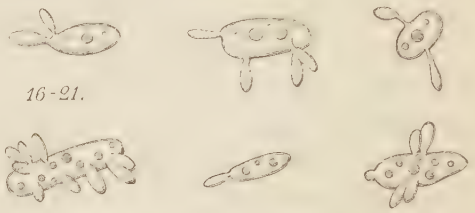

Fig. 16—21. Konidiensprossung. Vergr. 590.

Die Resultate sind in Tab. II zusammengestellt. Bei allen Kulturen entwickelte sich kräftiges Mycel, welches nach einiger Zeit in Konidienbildung überging. Am längsten wurde dieselbe bei Protogen hinausgeschoben. Bemerkenswert war noch, daß in Peptonnährlösung die Konidienträger von unregelmäßiger Gestalt waren. Fig. 22, 23.

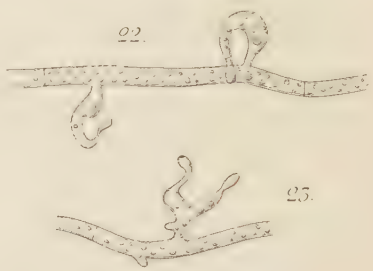

Fig. 22, 23. Unregelmäßig gestaltete Konidienträger in Peptonnährlösung. Vergr. 410.

Tabelle II.

Substanz	%	Beobachtungszeit	Konidienbildung	Mycelentwickelung
Pepton	0,5	4 Tage	an einzelnen Fäden reichlich	kräftig unter reichlicher Verzweigung
	„	8 „	reichlich; Konidienträger unregelmäßig gestaltet	„
Protogen	„	4 „	keine oder doch nur äußerst gering	„
	„	8 „	gering, aber in Zunahme begriffen	„
Asparagin	„	4 „	gering	„
	„	8 „	stellenweise sehr reichlich	„

2. Einfluß von stickstofffliefernden Verbindungen auf die Konidienbildung.

Nach den in Tab. III zusammengestellten Resultaten ergiebt sich, daß durch den Mangel an Kohlenstoff die vegetative Entwickelung des Pilzes sehr beeinträchtigt wird, während die Konidienbildung in äußerst reichlichem Maße stattfindet, so daß die ganze Kulturflüssigkeit von ihnen erfüllt wird. Gleichzeitig fiel auf, daß die Konidien nur in geringer Zahl vegetativ auskeimten, die meisten dagegen durch Sprossung direkt neue Konidien erzeugten. Fig. 16—21.

Tabelle III.

Substanz	%	Beobachtungszeit	Konidienbildung	Mycelentwickelung
Weinsaures Ammoniak	0,5	4 Tage	gering	gut
	„	8 „	sehr reichlich; vielfach Sproßformen	gering
Salpetersaures Ammoniak	„	4 „	reichlich	„
	„	8 „	massenhaft; vielfach Sproßformen	„
Salpetersaures Kalium	„	4 „	äußerst reichlich; Konidienträger wie in Pepton; Konidien meist Sproßform zeigend	„
	„	8 „		„

3. Einfluß von Kohlehydraten auf die Konidienbildung.

Wie aus Tabelle IV ersichtlich, begünstigte die Ernährung des Pilzes mit Kohlehydraten das vegetative Wachstum, so daß die Konidienbildung erst später eintrat. Die abgegliederten Konidien zeigten auch Vermehrung durch direkte Sprossung, vorwiegend keimten sie jedoch zu Mycelfäden aus. Auch waren vielfach Übergangsstadien vorhanden, indem die Konidien erst zu kurzen Keimschläuchen auswuchsen, an denen wiederum Konidien entstanden. Fig. 24—27. In Maltose-Nährlösung trat reichlicher Zerfall von Hyphen ein, wobei die abgetrennten Zellen, wie auf Kastanienkulturen (Fig. 28), dünne, konidientragende Hyphen erzeugten. Allerdings trat diese Bildung erst

ein, nachdem die ganze Kulturflüssigkeit von Mycel aufgesaugt war.

Tabelle IV.

Substanz	%	Beobachtungszeit	Konidienbildung	Mycelentwickelung
Rohrzucker	5	6 Tage	keine	kräftig; reichlich verzweigt
	„	20 „	reichlich; teilweise Sproßformen	Mycel die ganz. Kulturflüssigkeit erfüllend, dicht verflochten
Traubenzucker	„	6 „	keine	wie vorige
	„	20 „	wie bei Rohrzucker	„
Maltose	1	6 „	keine	„
	„	20 „	reichlich; Konidien meist vegetativ keimend	„
Dextrin	2	6 „	keine	„
	„	20 „	reichlich	„
Gummi arabicum	1	6 „	keine	dünnes, reich verzweigtes Mycel
	„	20 „	geringe	do, die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend

Fig. 24—27. Konidiensproßformen in Kohlehydraten. Vergr. 590.

Fig. 28. Hyphenzerfall in Maltose-Nährlösung mit Luftkonidienträgerbildung. Vergr. 590.

4. Einfluß organischer Säuren auf die Konidienbildung.

Organische Säuren üben auf die vegetative Entwickelung nach den Zusammenstellungen in Tab. V einen hemmenden Einfluß aus. Das Mycel entwickelt sich sehr schwach, indem es dabei meist blasige Anschwellung zeigt. Die Konidienbildung ist mehr oder weniger reichlich. In ameisensaurem Ammon traten in außerordentlicher Menge Sproßformen bildende Konidien auf.

Tabelle V.

Substanz	%	Beobachtungszeit	Konidienbildung	Mycelentwickelung
Äpfelsäure	0,5	10 Tage	reichlich	gering, unter blasigen Anschwellungen
Citronensäure	„	„	„	„
Weinsäure	„	„	gering	„
Oxals. Kal.	„	„	reichlich	gering
Ameisens. Ammoniak	„	„	reichlich; Konidien sich fast ausschließlich durch Sprossung vermehrend	„

5. Einfluß mehrwertiger Alkohole auf die Konidienbildung.

Auch in diesen Kulturen erfolgte eine verhältnismäßig reichliche Konidienbildung, während das Wachstum des Mycels sehr gering war. Tab. VI.

Tabelle VI.

Substanz	%	Beobachtungszeit	Konidienbildung	Mycelentwickelung
Glycerin	5	10 Tage	reichlich	gering
Mannit	1	„	„	„
Quercit	0,5	„	„	sehr gering

C. Einfluß steigender Konzentration von Nährlösungen auf die Konidienbildung.

1. Einfluß steigender Konzentration von Kohlehydraten.
2. Einfluß steigender Konzentration von anorganischen Salzen.

1. Die Kulturversuche mit dem Pilze in Bezug auf das Verhalten in verschiedenen Konzentrationen von Kohlehydraten hatte ich derart angestellt, daß ich Mycelstücke einer Pflaumensaftkultur, welche noch keine Konidien gebildet hatte, in gleiche Mengen einer gleichartig zusammengesetzten Nährlösung (NaCl, $CaCl_2$, KH_2PO_4aā 0,1 %, $MgSo_4$ 0,05 %, Asparagin 0,5 %) brachte, in der ungleiche Mengen des betreffenden Kohlehydrates enthalten waren.

Rohrzucker.

Beobachtungszeit	25 %	50 %	75 %	100 %	125 %
8 Tage	Mycelentwickelung kräftig; Konidienbildung sehr gering	Mycelentwickelung kräftig; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung gut; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung mäßig; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung sehr gering; keine Konidienbildung
21 „	Mycel die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend unter reichlicher Konidienbild.	Mycel die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend unter geringer Konidienbild.	wie bei 50 %	Mycelentwickelung reichlich; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung schlecht; keine Konidienbildung

Traubenzucker.

Beobachtungszeit	25 %	50 %	75 %	100 %	125 %
8 Tage	Mycelentwickelung kräftig; Konidienbildung sehr gering	Mycelentwickelung kräftig; keine Konidienbildung	wie bei 50 %	Mycelentwickeluug gut; keine Konidienbildung	keine Entwickelung
21 „	Mycel die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend; reichliche Konidienbild.	wie bei 25 %	Mycelentwickelung mäßig; sehr geringe Konidienbildung	Mycelentwickelung gering; keine Konidienbildung	„

Maltose.

Beobachtungszeit	5 %	10 %	20 %	50 %	100 %
8 Tage	Mycelentwickelung kräftig; keine Konidienbildung	wie bei 5 %	Mycelentwickelung gut; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung mäßig; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung sehr gering; keine Konidienbildung
21 „	Mycel die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend; geringe Konidienbildung	„	wie bei 5 %	Mycelentwickelung sehr gering; keine Konidienbildung	„

Dextrin.

Beobachtungszeit	10 %	25 %	50 %	100 %
8 Tage	Mycelentwickelung kräftig; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung gut; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung mäßig; keine Konidienbildung	Mycelentwickelung sehr gering; keine Konidienbildung
21 „	Mycel die ganze Kulturflüssigkeit erfüllend; geringe Konidienbildung	wie bei 10 %	Mycelentwickelung sehr gering; korallenförmiges Aussehen; keine Konidienbildung	keine Entwickelung mehr

Gummi arabicum.

Beobachtungszeit	10 %	25 %	Gesättigte Lösung
8 Tage	Mycelentwickelung gut; keine Konidienbildung	wie bei 10 %	Mycelentwickelung gering; keine Konidienbildung
21 „	Mycelentwickelung reichlich; zu einem dichten Gewebe verflochten; Konidienbildung gering	„	keine Entwickelung mehr

Aus obigen Tabellen ergiebt sich, daß die Konidienbildung mit Zunahme der Konzentration der Kohlehydrate abnimmt, so

daß sie entweder äußerst gering wird oder ganz unterbleibt. Das Mycel des Pilzes verträgt äußerst hohe Konzentrationen. Es zeigte noch ein verhältnismäßig gutes Wachstum

in Rohrzuckerlösung von 125 %
„ Traubenzuckerlösung „ 100 %
„ Maltose „ „ 50 %
„ Dextrin „ „ 50 %
„ Gum. arab. gesättigte Lösung.

Es ist dies ein auffallendes Verhalten im Vergleich zu andern bezüglich ihrer Konzentrationsgrenzen des Wachstums in Kohlehydraten untersuchten Pilzen. So fand F. Eschenhagen (89) die Konzentrationsgrenze des Wachstums in Traubenzuckerlösung für

Aspergillus niger bei 53 %
Penicill. glaucum „ 55 %
Botrytis cinerea „ 51 %

Reinhard giebt für Peziza Sclerotior. die Konzentrationsgrenze des Wachstums bei 60 % Traubenzuckerlösung an. Am nächsten bezüglich der Höhe der Konzentrationsgrenzen

Fig. 29. Korallenförmiges Wachstum des Mycels in 50 % Dextrinlösung. Vergr. 590.

in Kohlehydraten kommt der Nectria Hormodendron Hordei und Eurotium repens. Für Hormod. Hordei liegt nach K. Bruhne (94) die Grenze des Wachstums in Traubenzuckerlösung von 75 % bis 85 %, in Rohrzuckerlösung von 110 %. Eurotium repens G. Klebs (96) bildet noch bei einer Konzentration von 100 % Rohrzucker

und 90% Traubenzucker normale Konidienträger aus. Volutella ciliata (vergl. pag. 44) zeigt noch relativ gutes Wachstum jedoch keine Konidienbildung in Rohrzuckerlösung und 90% Traubenzuckerlösung. Bemerkenswert war noch besonders in 50% Dextrinlösung das korallenartige Aussehen des Mycels. Fig. 29.

Zu den Versuchen behufs Feststellung des Einflusses von steigender Konzentration anorganischer Salzlösungen auf die Konidienbildung benutzte ich eine Grundlösung von 5% Rohrzucker und 0,5% Fleischextrakt, der die verschiedenen Mengen des betreffenden Salzes zugesetzt waren. Die Zeitdauer der Kulturen betrug 4 Wochen.

Chlorcalcium.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	keine
20	„	„
30	gering; blasige Anschwellung der Hyphen	„
40	keine	„

Chlormagnesium.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	sehr gut	keine
20	gut	„
30	gering; blasige Anschwellungen	„
40	keine	„

Chlorcalium.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	gering
20	mäßig	sehr gering
30	keine	keine

Chlornatrium.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	keine
20	keine	„

Chlorammonium.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	mäßig	reichlich
20	keine	keine

Natriumsulfat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	reichlich
20	„	gering
30	mäßig	sehr gering
40	„	„
60	sehr gering	keine

Magnesiumsulfat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	gering
20	„	„
30	„	„
40	„	„
50	mäßig: korallenförmige Mycelbildungen	keine
60	keine	„

Kaliumbiphosphat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	gering
20	„	keine
gesättigte Lösung	sehr gering	„

Natriumbiphosphat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gut	gering
20	gering	keine
30	keine	„

Kaliumnitrat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gering	reichlich
20	„	„
gesättigte Lösung	„	„

Natriumnitrat.

%	Mycelentwickelung	Konidienbildung
10	gering	reichlich
20	sehr gering	keine
30	keine	„

Nach vorstehenden Tabellen findet man, daß die Konzentrationsgrenzen in anorganischen Salzen für das Wachstum des Mycels, d. h. für die vegetative Entwickelung der Nectria cinnabarina im allgemeinen höher liegen, als für die fruktifikative, d. h. für die Konidienbildung. Zur besseren Übersicht habe ich

die Konzentrationsgrenzen für die vegetative und fruktifikative Entwickelung des Pilzes in untenstehender Tabelle zusammengestellt. Darnach liegt die Konzentrationsgrenze der vegetativen Entwickelung in den untersuchten Salzen mit Ausnahme der Alkalichloride KCl, NaCl, NH_4Cl und des Salpeters meistens doppelt so hoch als für die Konidienbildung. In 30 %iger Magnesiumchlorid- und Calciumchloridlösung zeigte das Mycelium blasige Anschwellungen. Bei Anwendung höherer Konzentrationen von Sulfaten, besonders Magnesiumsulfat, traten korallenförmige Mycelformen auf. Fig. 29. Sonstige bemerkenswerte Veränderungen habe ich in diesen Kulturen nicht beobachtet.

Salzlösung	Konzentrationsgrenze der vegetativen Entwickelung	Konzentrationsgrenze der fruktifikativen Entwickelung
Chlorcacium	30 %	unter 10 %
Chlormagnesium	30 %	„ 10 %
Chlorkalium	20 %	20 %
Chlornatrium	10 %	10 %
Chlorammonium	10 %	10 %
Natriumsulfat	60 %	40 %
Magnesiumsulfat	60 %	50 %
Kaliumbiphosphat	gesättigte Lösung	20 %
Natriumbiphosphat	20 %	10 %
Kaliumnitrat	20—30 %	20—30 %
Natriumnitrat	20 %	10—15 %

In allen Kulturen, die ich im Laufe eines Jahres in der mannigfaltigsten Weise sowohl von den Nachkommen der Ascosporen, als auch der Tuberculariakonidien, von welchen ich ausging, angelegt hatte, erhielt ich immer nur eine länglich

eiförmige Konidienform. Niemals konnte ich das Auftreten von sichelförmigen, mehrkammerigen Konidien beobachten, wie sie Mayr (80) beschreibt, und die er als Macrokonidien bezeichnet. H. Mayr hatte dieselben erhalten, indem er der Länge nach aufgespaltene Holzstücke, welche mit Nectriamycel infiziert waren, in Wasser stellte. Nach einiger Zeit bildeten sich rosarote Polster, die aus sichelförmige, mehrkammerige Konidien abschnürenden Hyphen bestanden. Sogar als ich die Versuche in der von Mayr angegebenen Weise ausführte, erhielt ich nur in einem einzigen Falle, wo ich dem Wasser absichtlich Konidien von Fusisporium solani zugefügt hatte, die von Mayr beschriebenen Polster. Letztere gehören deshalb nicht in den Entwickelungsgang der Nectria cinnabarina T., zu welcher sie H. Mayr irrtümlicher Weise gestellt hat, sondern sind wahrscheinlich als die unter dem Namen Fusisporium Solani bekannte Konidienform zu betrachten.

D. Einfluss des Lichtes auf die Konidienbildung.

Beim Vergleiche von Kulturen auf Kastanien, Brotstücken, Agar-agar etc., welche im Tageslichte gewachsen waren und solchen, die im Dunkelzimmer des botanischen Instituts gestanden hatten, fiel sofort auf, daß erstere an ihrer ganzen Oberfläche schön gelbrote Färbung zeigten, während die letzteren vollständig farblos waren. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, daß die Oberfläche beider Kulturreihen reichlich mit Konidien bedeckt war, nur mit dem Unterschiede, daß die dem Lichte ausgesetzt gewesenen Konidien die den Tuberculariakonidien eigene Farbe besaßen, während die im Dunkeln gebildeten farblos waren. Wurden letztere einige Tage an das Fenster gestellt, so nahmen sie ebenfalls die rötliche Färbung an. Noch auffallender war der Unterschied bei Kulturen, welche unter einer mit Kupferoxydammoniaklösung und unter einer mit Kaliumdichromatlösung gefüllten Sennebiere'schen Glocke gewachsen waren. Während die dem Einflusse der roten Licht-

strahlen ausgesetzten Konidien vollkommen frei von Farbstoff waren, hatten die den violetten Lichtstrahlen zugänglichen Konidien die rote Färbung angenommen. Hieraus folgt, daß der Konidienfarbstoff nur durch die Einwirkung der chemisch wirksamen Lichtstrahlen entsteht. Anders verhält es sich mit dem im Innern der Lager sich vorfindenden, blutroten Farbstoffe. Dieser bildet sich sowohl auf belichteten als unbelichteten Kulturen. Außerdem bemerkte ich, daß an Alkoholmaterial von Rindenstücken mit Perithecien und Tubercularialagern nach Jahresfrist die ersteren noch ihre granatrote Farbe besaßen, während letztere mit den vollständig weiß gewordenen Konidienschichten bedeckt waren. Die Nectria cinnabarina erzeugt demnach zwei in ihrem Verhalten gegen das Licht verschiedene Farbstoffe. In Übereinstimmung hiermit hat W. Zopf (93) durch chemische und spektroskopische Untersuchungen festgestellt, daß der Nectriafarbstoff aus zwei Carotinen bestehe, einem gelben-sauerstoffhaltigen Carotin und einem roten-sauerstofffreien Carotin. Die Bildung des gelben Carotins, welches sich in den Konidien findet, würde demnach durch die chemische Oxydationswirkung der ultra-violetten Lichtstrahlen entstehen, während das in den Hyphen vorhandene Carotin unabhängig vom Lichte auftritt. Auf das Wachstum und die Fruktifikationsformen der Nectria übte das diffuse Tageslicht, wie bei den meisten Pilzen, keinen sichtbaren Einfluß aus, im Gegensatze zu den Algen und höheren Gewächsen, bei denen es, wie die Arbeiten von Klebs (96) und Vöchting (93) ergeben haben, für die Bildung der Fortpflanzungsorgane von großer Bedeutung ist. Ob bei der Nectria cinnabarina die Farbe, analog den Blütenfärbungen höherer Pflanzen als Anlockungsmittel für Insekten dient, läßt sich wohl vermuten, jedoch sind sichere Beobachtungen hierfür nicht bekannt. Daß der Pilz thatsächlich durch Tiere verbreitet wird, konnte ich an Schnecken deutlich verfolgen. Dieselben fraßen die Konidienlager anscheinend mit großer Begierde, und ich fand in den Exkrementen der Schnecken nach ungefähr 24 Stunden reichlich Konidien vor, welche gut keimten und Mycelien entwickelten.

E. Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Konidien.

Geringe Mengen von Konidien, sowohl aus Flüssigkeiten, als von Tubercularialagern, verteilte ich in sterilisiertem Pflaumensafte und stellte sie im Januar 1897 im botanischen Garten in das Freie. Die Temperatur betrug 0° C., stieg jedoch mittags bis 7° C. über Null, fiel dann wieder und schwankte einige Zeit zwischen —2° und +4° C. Nach fünf Tagen untersuchte ich die Kulturen und fand, daß nur ganz vereinzelt Konidien kurze Keimschläuche getrieben. Die Mehrzahl war unverändert geblieben, jedoch nicht zu Grunde gegangen, sondern begannen, als ich sie einige Zeit im Zimmer stehen hatte, zu keimen. Pflaumensaftkulturen, welche ich in das fließende Wasser des Aquariums, dessen Temperatur 8° C. betrug, versenkt hatte, enthielten nach 5 Tagen fast alle Konidien in Keimungsstadien. Das Wachstum war jedoch sehr langsam, und es hatten sich nur kurze meist unverzweigte Hyphen entwickelt. Stärkeres Wachstum und verzweigte Hyphen zeigten sich in Kulturen, die 5 Tage bei Zimmertemperatur (16 bis 17° C.) gestanden hatten. Konidien-Aussaaten in Pflaumensaft, welche sich 5 Tage im Thermostaten bei 20—25° C. befunden hatten, ließen schon bei der makroskopischen Betrachtung eine kräftige Entwickelung erkennen. Die ganze Kulturflüssigkeit war von Mycel durchzogen, welches sich mikroskopisch als aus kräftigen, reichverzweigten Hyphen bestehend erwies. Aussaaten von Konidien in Pflaumensaft, welche ich während eines Zeitraums von 5 Tagen im Thermostaten auf einer Temperatur von 30 bis

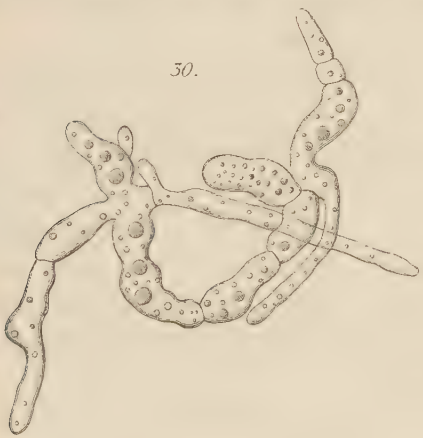

Fig. 30. Blasige Anschwellung der Hyphen bei 30—33° C. Vergr. 590.

33° C. gehalten hatte, enthielten Keimlinge von sehr schwachem, langsamen Wachstum. Hierbei war auffallend, daß die Hyphen blasig angeschwollen waren. Fig. 30.

Als Kardinalpunkte der Keimungstemperatur der Konidien kommen nach obigen Untersuchungen für die Nectria cinnab. folgende in Betracht:

Minimum der Keimungstemperatur wenige Grade über Null.
Optimum „ „ bei 20—25° C.
Maximum „ „ „ 35° C.

Die Kardinalpunkte der Keimungstemperatur für die Ascosporen, welche ich in der gleichen Weise, wie für die Konidien angegeben, bestimmt hatte, sind folgende:

Minimum der Keimungstemperatur bei 5—8° C.
Optimum „ „ „ 17—20° C.
Maximum „ „ „ 27—30° C.

Während demnach die Temperaturgrenzen der Keimung für die Ascosporen ca. 22° C. entfernt sind, liegen sie für die Konidien ungefähr 30° C. auseinander.

Im Anschlusse hieran möchte ich noch die Beobachtungen mitteilen, welche ich bezüglich der Widerstandsfähigkeit der Konidien und Ascosporen gegen längere Austrocknung gemacht habe. Ich fand nämlich, daß Konidien, welche in nicht zu dünner Schicht auf sterilisierte Deckgläschen gestrichen waren, und die ich in trockener Luft aufbewahrt hatte, noch nach nahezu 12 Monaten zum größten Teile keimfähig waren. Ascosporen, in gleicher Weise behandelt, hatten ihr Keimungsvermögen schon nach 3 Monaten eingebüßt.

II. Gährungerregende Eigenschaft der Nectria cinnabarina.

Kultivierte ich Nectriamycel unter Luftabschluß in Pflaumensaft oder verdünnter Zuckerlösung — ich benutzte hierzu eine ungefähr 500 ccm haltende Absaugflasche, welche vollständig mit der Flüssigkeit angefüllt wurde —, so konnte ich schon nach einigen Tagen in einer mit Barythydratlösung beschickten Vorlage, welche einerseits mit dem Kulturgefäß, andererseits mit einer zweiten $Ba(HO)_2$-lösung enthaltenden Drechsler'schen Flasche verbunden war, einen Niederschlag von $BaCO_3$ wahrnehmen. Notwendig war für diesen Versuch, daß das Mycel schon einige Zeit bei Luftzutritt gewachsen war. Das Kulturgefäß mit der Flüssigkeit hatte ich vor der Impfung sorgfältig sterilisiert. Nach ungefähr dreiwöchentlichem Wachstum des

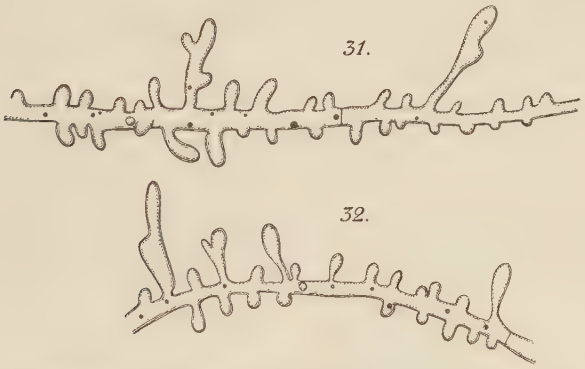

Fig. 31, 32. Wachstum des Mycels bei Luftabschluß in verdünntem Pflaumensaft. Vergr. 410.

Mycels, das sich während dieser Zeit reichlich entwickelt hatte und nahezu die Hälfte des Kulturgefäßes erfüllte, unterwarf ich die Kulturflüssigkeit der Destillation. Im rektifizierten Destillate konnte ich mittels der Jodoformreaktion, sowie der Chromsäurereaktion das Vorhandensein von Alkohol nachweisen. Bei der Untersuchung des Mycels fiel auf, daß es äußerst zahlreiche, jedoch meist nur sehr kurze Zweige gebildet hatte, welche ihm

das in Fig. 31 und 32 ersichtliche Aussehen verliehen. Bei der Überführung des Mycels in destilliertes Wasser trat nach kurzer Zeit reichlich Konidienbildung ein. Energischer noch wie bei Luftabschluß war die Gährungsthätigkeit des Mycels bei Luftzutritt. Es trat dabei nicht nur Alkoholgährung auf, sondern in ganz besonderem Maße Oxydationsgährung. So machte sich in allen Kastanienkulturen, die ich in Unzahl angelegt hatte, nach 5—8 tägiger Entwickelung ein intensiver Geruch nach Essigäther bemerkbar. Die Menge des infolge gleichzeitiger Alkoholgährung und Bildung von Essigsäure entstandenen Esters war so groß, daß es mir gelang denselben aufzufangen. Ich hatte zu diesem Zwecke etwa 20 Kastanien in einer Glasglocke sterilisiert und geimpft. Das Kulturgefäß verband ich dann mit einer Absaugevorrichtung, in welche eine Alkohol enthaltende Vorlage eingeschaltet war. Essigätherbildung trat außerdem noch auf in Pflaumensaft-, Rohrzucker-, Traubenzucker- und Maltoselösungen, sobald das Mycel des Pilzes soweit entwickelt war, daß es die ganze Flüssigkeit verbraucht hatte und mit der Luft in direkte Berührung kam. Andere Ester, die ich nicht bestimmen konnte, von bergamottölartigem Geruche, erhielt ich in Agarkulturen mit konzentriertem Pflaumensaft. Hieraus ergiebt sich die interessante Thatsache, daß der Pilz nicht nur Zuckerarten zu Alkohol vergähren kann, sondern auch unter gleichzeitiger Bildung von Säuren Ester zu produzieren im Stande ist.

III. Perithecienbildung.

Über die Frage der sexuellen oder asexuellen Entstehung der Ascosporen läßt sich bei der Schwierigkeit der Präparation der betreffenden Organe bei den Pyrenomyceten und anderen Ascomyceten wohl kaum eine sicher entscheidende Beantwortung finden. Es ist deshalb erklärlich, daß dieses Thema immer wieder von neuem zu Erörterungen Anlaß giebt. Näher auf

diese Kontroversen einzugehen liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit, und ich verweise auf die betreffenden Arbeiten von de Bary, Woronin, Brefeld, von Tieghem, Bauke, Janowitsch, Fisch u. a. Bei der Nectria cinnab. konnte ich bezüglich der Entwickelungsgeschichte der Perithecienanfänge folgendes beobachten. Ungefähr nach 14 tägigem Wachstum fand ich in Kulturen auf trockenen Substraten an der Oberfläche derselben zahlreiche knäuelartig verschlungene Hyphen. Fig. 33 und 34.

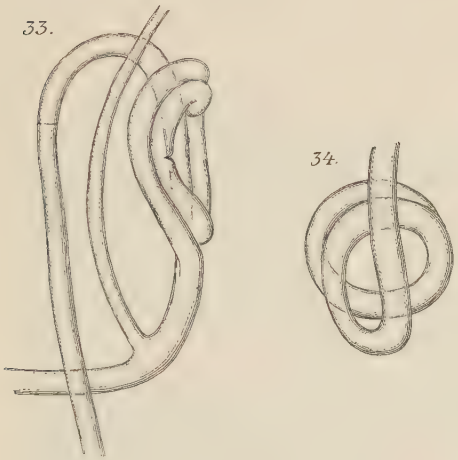

Fig. 33 u. 34. Hyphenknäuel auf Kastanienkulturen. Vergr. 590.

Dieselben zeichneten sich durch größeres Lichtbrechungsvermögen von den Mycelhyphen aus. In älteren Stadien sah ich, daß von diesen Hyphenknäueln unter Mitwirkung der sie umgebenden Hyphen, wie pag. 13 beschrieben, die Bildung des Stromas ausging. In noch jungen Lagerbildungen gelang es mir verhältnismäßig leicht die Knäuel nachzuweisen. Fig. 36, 37.

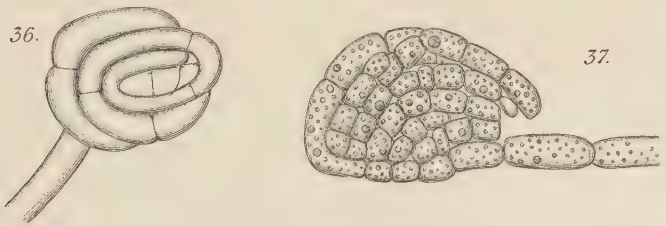

Fig. 36, 37. Hyphenknäuel in jungen Stadien der Stromabildung. Vergr. 590.

Bei weiter fortgeschrittener Entwickelung des Stromas, wenn die Hyphen durch zunehmende Verschmelzung schon ein

pseudoparenchymatisches Gewebe gebildet und jene schön rote Färbung, welche E. Bachmann für einen harzigen Körper hielt, von W. Zopf (92), wie bereits oben erwähnt, als ein Eucarotin erkannt wurde, zeigten, war es mir nur mit Hilfe von Microtom-Serienschnitten möglich das Hyphenknäuel aufzufinden. Fig. 38.

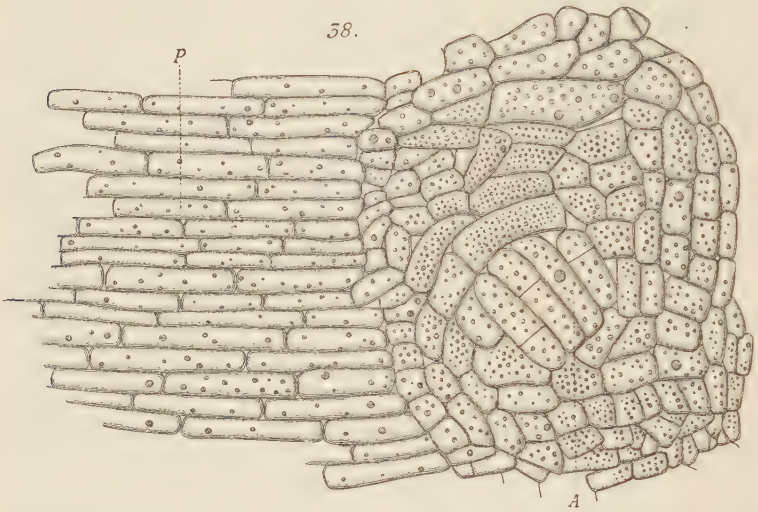

Fig. 38. Schnitt durch ein Anfangsstadium der Perithecienanlage. *A.* Ascogon. *P.* Paraphysen bildendes Gewebe. Vergr. 590.

Was die Bedeutung derselben betrifft, so dürfte wohl kein Zweifel darüber herrschen, daß sie als Ascogone aufzufassen sind, aus welchen dann die Asci entstehen. Die Lage der Ascogone befand sich meist im Grunde der in Bildung begriffenen Perithecien. Sie waren von kleinzelligem Parenchym umgeben, welches sich beiderseitig nach oben in die Wandung des Peritheciums fortsetzte. Senkrecht über dem Ascogone wurden die das Innere des Fruchtkörpers erfüllenden Paraphysen gebildet. In meinen Kulturen konnte ich in mächtig entwickelten Lagern meist zwei bis drei solcher Entwickelungsstadien bemerken. In einigen war bereits Vergallertung der Paraphysen eingetreten, eine weitere Ausbildung fand jedoch nicht statt. Die Ursache dieses Stillstandes könnte darin ihren Grund haben,

daß der Pilz in einen längeren Ruhestand einzugehen genötigt ist, ich vermute jedoch, daß sie in Nahrungsmangel zu suchen ist. Die Zufuhr neuer Nahrung erwies sich bei diesen Kulturen als eine außerordentliche Schwierigkeit, da durch die auf der Oberfläche in Unsummen erzeugten Konidien dieselbe sofort von letzteren zur Keimung und Mycelbildung benutzt wurde. Außerdem machte sich bei Zusatz von größeren Mengen flüssiger Nahrung der Einfluß der Feuchtigkeit in eingangs beschriebener Weise geltend, sodaß die Entwickelung der Lager noch mehr gehemmt wurde.

IV. Resultate.

Nach vorstehenden Untersuchungen gelangte ich zu folgenden Resultaten:

1. Für die Fortpflanzung der Nectria cinnabarina kommt, wie bei den meisten Pilzen, der ungeschlechtlichen Konidienbildung die größere Bedeutung zu. Wir treffen sie daher in den mannigfaltigsten Variationen von der einfachen Sproßform, den unregelmäßig an allen Hyphen abgegliederten Flüssigkeitskonidien bis zu den oft mächtig entwickelten Lagern, auf welchen zahllose Konidienträger zu einem Hymenium vereinigt sind, an. Jede dieser Fruktifikationsformen ist von bestimmten äußeren Bedingungen abhängig, nach deren Kenntnis es uns möglich ist den Pilz zu veranlassen, in der einen oder andern Form zu fruktifizieren.
   a) Konidienbildung in Sproßform tritt ein bei sehr großem Nahrungsmangel, zumal bei Ernährung des Pilzes ohne Kohlenstoff liefernde Verbindungen.
   b) Flüssigkeitskonidien bilden sich bei sehr hohem Wassergehalt des Kulturmediums. Die Menge derselben ist um so größer, je mehr die vegetative Entwickelung des Mycels durch Verminderung der Nahrung beeinträchtigt

wird, besonders wenn vorher gut ernährten Mycelien plötzlich die Nahrung entzogen wird. Die Bildung von Flüssigkeitskonidien wird gehemmt durch Zusatz konzentrierter Salzlösungen.

c) Luftkonidien an einzelnen Konidienträgern entstehen bei geringerem Wassergehalt des Substrates, z. B. 2—4% Agar-Agar.

d) Die Bildung von Tubercularialagern wird erzielt durch Anwendung relativ trockener Substrate, wie Brotstücke, Kastanien etc., wobei reichliches Wachstum des Mycels in die Luft stattfinden kann.

2. Temperatur und Licht übten auf die Konidienbildung keinen wahrnehmbaren Einfluß aus. Die Färbung der Konidien dagegen ist vom Lichte abhängig.

3. Das Mycel der Nectr. cinnab. vermag bei Luftabschluß Zuckerarten zu vergähren. Unter den Gährungsprodukten war Alkohol in 0,5 Vol.% nachweisbar[1]). Bei Luftzutritt wird Essigäther gebildet.

4. Die Entstehung der Perithecien beginnt mit der Bildung von Ascogonen.

---

[1]) Die Bestimmung des Alkohols wurde von Herrn Kantonalchemiker Dr. Kreis ausgeführt.

Volutella ciliata Alb et Schweinitz.

Ich verdanke diesen Pilz der Güte des Herrn Prof. Klebs, welcher ihn im Herbste des vergangenen Jahres auf Früchten von Asparagus fand. Seit dieser Zeit habe ich ihn in vielen Reinkulturen weitergezüchtet und konnte in diesen Kulturen immer nur das Auftreten ungeschlechtlicher Fortpflanzung durch Konidien beobachten. Die Volutella ciliata gehört zu denjenigen Pilzen, welche man in der Systematik als „Fungi imperfecti" aufzuzählen pflegt. Man nimmt an, daß dieselbe nach ihrer Analogie in der Bildungsweise der Konidien den Ascomyceten zuzuzählen sei, ihre Ascusfruktifikation jedoch bis jetzt noch nicht aufgefunden, bezüglich ihre Zugehörigkeit zu einem Ascomyceten noch nicht nachgewiesen sei.

Es ist jedoch kein Grund vorhanden, annehmen zu müssen, daß der Pilz noch eine andere Fruktifikationsweise besitzt, sondern es wäre sehr wohl denkbar, daß er eine selbständige Pilzform darstellt. Die Ausbildung der Konidienträger ist bei der Volutella in sehr hohem Maße äußeren Einflüssen unterworfen, und hat man sich daher schon vielfach mit der Gestaltsänderung der Konidienträger beschäftigt, Saccardo (97), Attkinson (95), Boulanger (97).

Die Volutella ciliata bildet auf Früchten, dürren Bohnenstengeln etc. kleine, nur wenige (1—2) Millimeter große, kugelige Konidienlager. Dieselben besitzen eine bleichrötliche Farbe und zeichnen sich hauptsächlich dadurch aus, daß sie in reichlicher Menge mit langen, weißen Haaren versehen sind. Die auf natürlichen Substraten entstandenen Konidienlager sind meist gleich groß und kurz gestielt. In Kulturen dagegen ist ihre Größe sehr variabel, und ich konnte Hymenien von 0,5 cm

Durchmesser beobachten. Meist saßen dieselben direkt dem Substrate auf, oder das Mycel begann, zumal in mäßig feuchter Luft, bündelig zusammenliegende Lufthyphen zu bilden, an denen dann oft 0,5 cm vom Substrahte entfernt die Bildung der Konidienlager stattfand.

Die Fruktifikation erfolgt auf Mycelien in Kulturen in konzentrischen Zonen, so daß ähnliche Erscheinungen wie die Hexenringe der Hymenomyceten zustande kommen. Fig. 39.

Fig. 39. Volutella ciliata-Kultur auf Nähragar (0,5 % Asparagin, 2 % Rohrzucker, 0,5 % Knop) (Photographische Aufnahme.) Fruktifikation in kreisförmigen Zonen.

Die Konidienbildung findet bei normaler Entwickelung an den Enden büschelig verzweigter Konidienträger, welche mit einem sterilen Haare versehen sind, statt. Die Länge dieser Haare beträgt 200—400 μ, ihre Breite 6—8 μ. Sie besitzen eine verdickte Membran, sind mehrfach septiert und an ihrer Oberfläche mit sehr kleinen Warzen bedeckt. Die Konidien sind sehr klein, 5—6 μ lang, 2 μ breit und von ovaler Gestalt. Sie keimen in verdünntem Pflaumensaft sehr leicht innerhalb 24 Stunden, indem sie erst ihr Volumen auf das doppelte vergrößern und dann gewöhnlich zwei Keimschläuche treiben. In Wasser keimen sie ebenfalls, jedoch in geringerem Maße, und es treten hierbei infolge des Nahrungsmangels Fusionen sowohl zwischen Konidien als auch Keimschläuchen auf. Am günstigsten für die Keimung und die Mycelbildung erweisen sich stickstofffliefernde Verbindungen, wie Asparagin, Leucin, Glycocoll. In Bezug auf die Ausbildung

der Konidienträger unterscheide ich mit Boulanger (97) folgende drei Formen:

1. Die Konidien werden an büschelig verzweigten Konidienträgern, welche mit einem sterilen Haare versehen sind, abgetrennt. Fig. 44. Diese Konidienträger sind meist zu einem Hymenium vereinigt.
2. Die Konidien entstehen an den Enden büschelig verzweigter Konidienträger. Fig. 49—51.
3. Die Konidien entstehen an der Spitze unverzweigter Konidienträger. Fig. 52—55.

1. Büschelige mit Haaren versehene Konidienträger.

Diese Form des Auftretens der Konidienbildung dürfte als die normale zu bezeichnen sein; sie hängt im allgemeinen von der Nahrung und der Temperatur ab. Eine spezifische Eigenschaft dieser mit Haaren versehenen Konidienträger ist jedoch, daß sie sich nur in Luft bilden können. In allen Kulturen, die

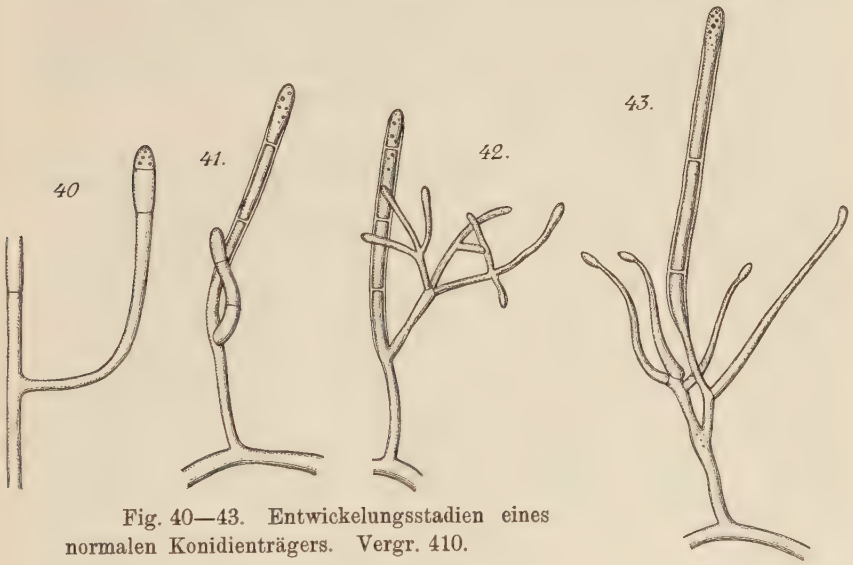

Fig. 40—43. Entwickelungsstadien eines normalen Konidienträgers. Vergr. 410.

ich in den verschiedenen Nährflüssigkeiten angelegt hatte, beobachtete ich, daß immer nur an denjenigen Hyphen, welche an die Oberfläche der Flüssigkeit gelangten, normale Konidienträger und

infolgedessen Konidienlagerbildungen erzeugt wurden, während an den in der Flüssigkeit befindlichen Hyphen meist nur einfache Konidienträger entstanden. Hierbei konnte ich deutlich die Entstehung der Haarbildungen aus einfachen Konidienträgern verfolgen. Sobald letztere mit der Luft in Berührung kamen, bildeten sie keine Konidien mehr, sondern wuchsen direkt in ein steriles Haar aus. Fig. 40. Am Grunde desselben entstanden dann seitliche Verzweigungen, welche schließlich zur Bildung der büscheligen Konidienträger führten. Fig. 40—44.

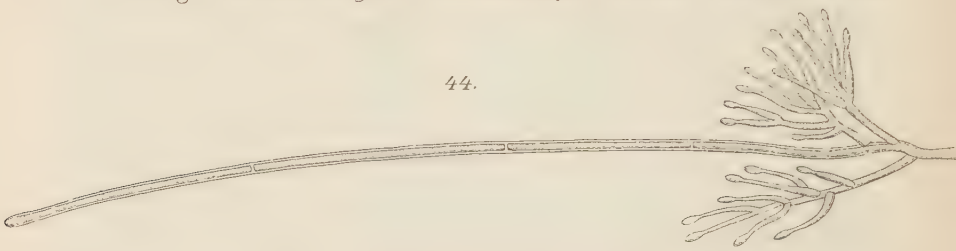

Fig. 44. Normaler Konidienträger auf einer Asparaginnährlösung entstanden.

Haare, welche an der Luft entstanden und die ich absichtlich wieder in die Flüssigkeit untergetaucht hatte, wuchsen zu vegetativen Hyphen aus. Fig. 45—48.

Als Ursache dafür, daß die Ausbildung der Haare nur in Luft stattfindet, können hauptsächlich zwei Faktoren in Betracht gezogen werden: Erstens der Sauerstoffgehalt der Luft und zweitens die Transpiration der Hyphen. Um zu ermitteln, ob etwa der Sauerstoff bei der Haarbildung beteiligt sei, brachte ich Agarkulturen, die ich mit kräftig entwickelten Mycelien, welche noch keine Haarbildung zeigten, geimpft hatte, unter den Rezipienten der Luftpumpe. Nachdem ich einige Zeit die Luft völlig ausgepumpt hatte, hielt ich die Kulturen so lange

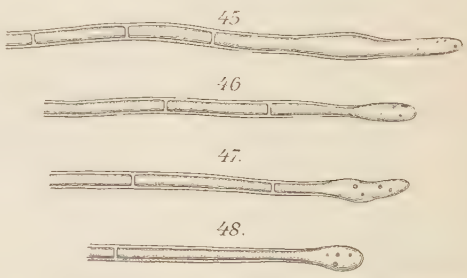

Fig. 45—48. Haare normaler Konidienträger, welche in Flüssigkeit zu vegetativen Hyphen weiterwuchsen. Vergr. 590.

unter einem bestimmten Luftdrucke, bis auf Kontrollkulturen reichlich Haarbildung eingetreten war. Dieselbe erfolgte durchschnittlich in 3—4 Tagen. Bei den Untersuchungen der betreffenden Kulturen fand ich dann, daß schon bei einem Luftdrucke von 2—14 mm reichlich Konidienbildung an einfachen Trägern eingetreten war (Fig. 55), während die Ausbildung der Haare einen Luftdruck von 16 mm erforderte. Es ergiebt sich hieraus, daß die Volutella ciliata normale Konidienträger schon bei einem Luftdrucke von 16 mm bildet, mithin das Auftreten der Haare schon bei einem sehr geringen Sauerstoffgehalt der Luft stattfindet. Nach diesen Resultaten kann dem Sauerstoffgehalt der Luft keine große Bedeutung für die Entstehung normaler Konidienträger zukommen. In anderem Maße machte sich der Einfluß der Transpiration auf die Haarbildung geltend. Ich untersuchte denselben in folgender Weise. Mycelstücke aus Flüssigkeitskulturen übertrug ich auf Nähragar und sorgte bei einem Teile der Kulturen für möglichste Hemmung der Transpiration. Ich erreichte dies dadurch, daß ich die betreffenden Kulturen in einen mit Feuchtigkeit gesättigten Raum brachte. In einer zweiten Kulturreihe begünstigte ich die Transpiration der Hyphen, indem ich die Kulturen offen in das Zimmer stellte. Während im letzteren Falle schon nach 48 Stunden normale Konidienträger erschienen, welche nach 3—4 Tagen zur Hymeniumbildung schritten, konnte ich bei den in den feuchten Kammern befindlichen Kulturen erst nach 5 Tagen ganz vereinzelte Haarbildungen bemerken. Konidienbildung an einfachen oder auch verzweigten Konidienträgern fand dagegen in reichlichem Maße statt.

Vorstehende Untersuchungen lassen die Bedeutung der Transpiration für die Ausbildung der Konidienträger deutlich erkennen, da dieselben nur bei genügender Transpiration ihre normale Form annehmen.

2. Büschelige Konidienträger.

Das Auftreten dieser Form der Konidienträger (Fig. 49—51) findet statt in allen Fällen, in welchen die Transpiration der

Hyphen sehr gehindert ist und dem Mycel gleichzeitig reichlich Nahrung, zumal anorganische Stickstoffverbindungen, geboten ist. In ganz besonderem Maße treten büschelige Konidienträger bei Anwendung höherer Konzentrationen von Kohlehydraten als Nährstoffe auf. Ich untersuchte hierbei den Einfluß verschiedener Konzentrationen in ähnlicher Weise wie dies für Nectria cinnab., vergl. pag. 22, geschah, und ich konnte feststellen, daß schon bei Anwendung von 20% Traubenzucker und 30% Rohrzucker keine normalen Konidienträger mehr erzeugt wurden, sondern daß sowohl auf der Oberfläche von Flüssigkeiten als auch Agarkulturen nur büschelförmige oder in

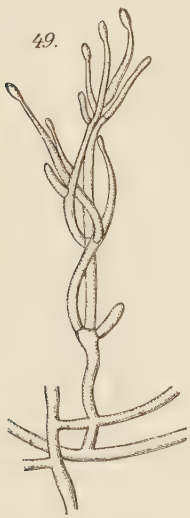

Fig. 49. Büscheliger Konidienträger, auf 50% Traubenzuckeragar entstanden. Vergr. 410.

Fig. 50 und 51. Konidienträger aus einer Asparaginnähragarkultur in feuchter Luft. Vergr. 410.

geringerem Maße auch einfache Konidienträger entstanden. Die Konidienbildung unterblieb ganz bei einer Konzentration von 60% Traubenzucker und 80% Rohrzucker. Die Konzentrationsgrenze des Wachstums des Myceliums lag in Traubenzuckerlösung bei einer Konzentration von 90% und in Rohrzuckerlösung bei 100%.

3. Einfache Konidienträger.

Bedingung für das Auftreten dieser Form ist, wie schon aus Vorhergesagtem hervorgeht, Mangel an Transpiration bei gleichzeitigem Nahrungsmangel. Ich erhielt sie daher immer

in Flüssigkeiten, welche mit großen Mengen von Konidien geimpft waren. Fig. 53, 54. Auf Agarkulturen in sehr feuchten Kammern entstanden sie, wenn durch reichliche Fruktifikation in

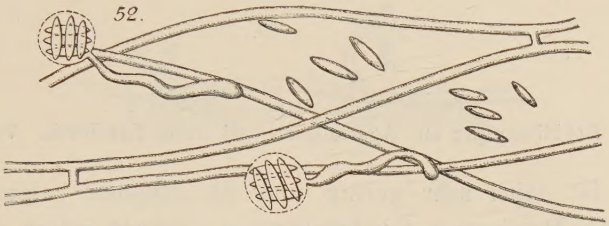

Fig. 52. Konidienträger aus einer Deckglaskultur. Die Konidien sind an der Spitze des Trägers zu einem Köpfchen verklebt.

büscheligen Konidienträgern Nahrungsmangel eintrat. Besonders traten sie in Tropfenkulturen auf, bei welchen ich Böttcher'sche Glaskammern verwandt hatte. Hierbei war bemerkenswert, daß die abgetrennten Konidien zu einem Köpfchen verklebten (Fig. 52), wodurch die Kultur, wie schon Attkinson bemerkte,

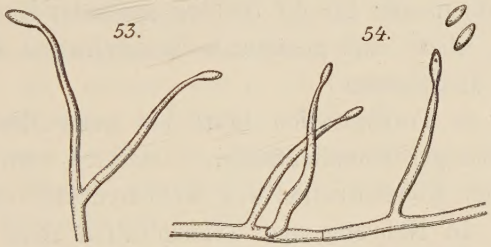

Fig. 53, 54. Konidienträger aus Flüssigkeitskulturen.
53. Glycocolllösung. Fig. 54. Pflaumensaftlösung. Vergr. 410.

das Aussehen einer Sporangien bildenden Mucorinee erhält. Die Ursache dieser Erscheinung ist eine mechanische, da ja bei den Deckglaskulturen die in die Luft wachsenden Konidienträger nach unten gerichtet sind, so daß der ausgeschiedene Schleim mit den Konidien sich an der Spitze des Trägers sammeln muß.

Wie fast alle Organismen ist auch die Volutella ciliata an bestimmte Temperaturgrenzen gebunden. Das Optimum ihres Wachstums liegt bei 17° C. Bei 25° C. ist die Konidienbildung

schon sehr beschränkt; normale Konidienträger entstehen bei dieser Temperatur nur in sehr geringem Maße. Bei 28—35° C. findet keine Konidienbildung mehr statt. Das Wachstum des

Fig. 55. Konidienträger aus Agarkulturen bei 5 mm Luftdruck. Vergr. 410.

Mycels ist dabei sehr gering und die Hyphen zeigen unter reichlicher Septierung Anschwellungen. Sobald jedoch die Kulturen wieder in mittlere Temperatur verbracht werden, findet normale Weiterentwickelung statt.

Resultat.

Die Bedingungen für die Bildung normaler Konidienträger der Volutella ciliata sind genügende Transpiration der Hyphen bei normaler Ernährung.

Mangel an Transpiration führt bei guter Ernährung zur Bildung büscheliger Konidienträger. Dasselbe wird durch Anwendung hoher Konzentration von Kohlehydraten erreicht.

Mangel an Nahrung und Transpiration reizt das Mycel zur Erzeugung einfacher Konidienträger.

Litteraturverzeichnis.

Attkinson, Geo. „Damping off“ Cornell University agricultural Experiment Station. Bulletin 94. 1895.

Bachmann, E. Spectroscopische Untersuchungen von Pilzfarbstoffen. Plauen 1886.

de Bary, Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig 1884.

Bauke, Botanische Zeitung 1877.

Bruhne, K. Hormodendron Hordei; W. Zopf. Beiträge zur Physiologie und Morphologie. Leipzig 1894.

Brefeld, O. Schimmelpilze. B. X. Münster 1891.

Brick, C. Jahrbücher der Hamb. wiss. Anstalt. Vol. X.

Boulanger, Ed. Développement et Polymorphisme du Volutella Scopula. Revue générale de Botanique. Paris 1897.

Eschenhagen, F. Über den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Stolp 1889.

Fisch, C. Botanische Zeitung 1882.

Fries, Systema Mycologicum. Vol. III. Greifswald 1832.

Fuistening, Botanische Zeitung 1867/68.

Hartig, R. Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institute. München 1880.

„ „ Baumkrankheiten. Berlin 1889.

Janowitsch, Botanische Zeitung 1865.

Klebs, G. Physiologie der Fortpflanzung. 1896.

„ „ Über einige Probleme aus der Physiologie der Fortpflanzung. Leipzig 1895.

Mayr, H. Untersuchungen aus dem forstbotanischen Institute. München 1883.

Nägeli, Theorie der Gährung. München 1889.

Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881.

Saccardo, Dom. Sulla Volutella ciliata. Richerche into al suo sviluppo. Malpighia 1897.

v. Thümen, Der Krebs der Obst- und anderer Laubbäume und seine Bekämpfung.

Tulasne, Select. carpolog. fungor. Vol. III.

Reinhard, Peziza Sclerotiorum. Pringsh. Jhrb. B. XXV. H. 3.

Vöchting, Über den Einfluß des Lichtes auf die Gestaltung und Anlage der Blüten. Berlin 1893.

Wehmer, C. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1894.

Winter, G. Einige Mitteilungen über die Schnelligkeit und das Wachstum der Keimschläuche. 1874.

Zopf, W. Beiträge zur Morphologie und Physiologie. Leipzig 1892.

„ „ Pilze. Breslau 1890.